

Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar* Roxb.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Vibrio Cholerae* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara *In Vitro* Dengan Metode Difusi Cakram

Ahmad Buldani¹, Retno Yulianti^{2*}, Pertiwi Soedomo³

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran UPN "Veteran" Jakarta

²Departemen Patologi Anatomo FK UPN "Veteran" Jakarta

³Departemen Mikrobiologi FK UPN "Veteran" Jakarta

Email: ¹ahmadbuldani23@mail.com, ²dr.retnoyulianti@yahoo.com, ³pertiwisudomo@gmail.com

Abstrak > Diare merupakan salah satu penyebab kematian di seluruh dunia. Bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* salah satu bakteri penyebab terjadinya infeksi saluran pencernaan yang berakibat terjadinya diare. Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diperoleh dari tumbuhan yang memiliki potensi antibakteri. Rimpang bangle dengan kandungan flavonoidnya diketahui memiliki efek antibakteri.

Tujuan Penelitian: untuk mengetahui efek antibakteri Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap kedua bakteri dengan melihat zona bening yang terbentuk serta mengetahui perbedaan efektivitas pada masing-masing konsentrasi. Metode Penelitian: penelitian eksperimental dengan 6 kelompok uji yakni kelompok perlakuan dengan dosis 25 %, 50%, 75 %, 100 %, kelompok kontrol positif (Tetrasiklin) dan kelompok kontrol negatif (aquades) dengan metode difusi untuk mengukur hambatan minimal. Data dianalisis dengan *One Way Anova* dan Uji T tidak berpasangan.

Hasil Penelitian : zona bening yang terbentuk berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% di kedua bakteri uji yaitu 7,90 mm (*Vibrio cholera*) dan 10,60 mm (*Staphylococcus aureus*). Hasil uji analisis *post hoc* kelompok perlakuan berbagai konsentrasi didapatkan perbedaan bermakna (nilai $p < 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna antara *Zingiber cassumunar* Roxb terhadap kedua bakteri.

Kata Kunci > *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*, *Zingiber cassumunar* Roxb

I. PENDAHULUAN

Diare merupakan salah satu penyebab kematian paling utama di dunia. Sebanyak 3,5 juta kematian dilaporkan oleh *World Health Organization* (WHO) terjadi akibat diare [1]. Berdasarkan profil kesehatan Indonesia tahun 2011, jumlah penderita diare meningkat menjadi 8.443 kasus dengan korban yang meninggal sebanyak 209 jiwa dan kejadian luar biasa (KLB) di 15 propinsi [2].

Penyebab diare dapat diakibatkan oleh faktor infeksi dan non infeksi. Diare yang disebabkan oleh infeksi paling sering diakibatkan oleh virus (30-40%) dan bakteri (20-30%).

Bakteri yang sering menyebabkan terjadinya diare antara lain, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella* [3].

Bakteri *Vibrio cholerae* merupakan penyebab penyakit kolera. Penyebaran bakteri ini secara primer dapat melalui air minum yang terkontaminasi, tetapi penelitian wabah akhir-akhir ini menunjukkan bahwa binatang laut antara lain kerang, tiram dan remis, serta udang dan kepiting, dapat juga menjadi perantara (*vehicle*) transmisi yang penting untuk infeksi *V. cholerae*. Oleh sebab itu penyakit kolera cenderung menimbulkan wabah dan pandemik secara bersamaan [4].

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen pada manusia, hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam. Kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus* dapat menyebabkan keracunan pada manusia. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam [4].

Rimpang bangle atau nama ilmiah *Zingiber cassumunar* Roxb. adalah salah satu tanaman yang sering dijadikan sebagai obat herbal oleh masyarakat. Tanaman ini mudah ditemukan dan dibudidayakan, sehingga merupakan obat tradisional yang cukup potensial untuk dieksplorasi manfaat yang terkandung didalamnya. Tanaman Rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) mengandung zat antibakteri, sehingga dapat digunakan sebagai pengganti antibiotika konvensional. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Tirtaningrum (2014) [5], ekstrak rimpang bangle mengandung senyawa golongan flavonoid, kuinon, steroid dan triterpenoid. Senyawa golongan flavonoid diketahui mempunyai aktivitas yang bermanfaat sebagai antiseptik dan antibakteri karena kandungannya yang cukup banyak dalam rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.).

Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji efektivitas ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) sebagai antibakteri terhadap bakteri *V. cholerae* secara *in vitro* dengan metode difusi cakram. Peneliti ingin melihat apakah

*) penulis korespondensi

terdapat efek dari rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap pertumbuhan bakteri.

II. TINJAUAN STUDI

Bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) adalah salah satu spesies dari famili *Zingiberaceae* (jahe-jahean) yang banyak digunakan sebagai obat tradisional, khususnya di Indonesia. Bagian tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat adalah rimpangnya. Warna bagian dalamnya kuning, rasanya pedas dan pahit serta memiliki aroma khas yang membuat kepala pening. Bangle mempunyai efek sebagai insektisidal, antioksidan, antiinflamatori, antelmintik dan antibakteri serta peluruh lemak [6]. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan rimpang bangle mengandung saponin, flavonoid, minyak atsiri, alkaloid, tanin, dan glikosida [7]. Senyawa Flavonoid dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri [8]. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai macam bagian tumbuhan, seperti daun, biji, ranting dan kulit batang. Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan dapat menyebabkan kematian sel tersebut.⁹ Saponin merupakan zat aktif yang memiliki fungsi untuk meningkatkan permeabilitas membran sehingga akan terjadi hemolisis sel. Jika saponin ini berinteraksi dengan sel bakteri, maka sel bakteri tersebut akan pecah atau lisis sehingga bakteri akan mati. Protein merupakan salah satu zat penyusun membran sel, saponin akan menyebabkan denaturasi protein pada membran sel bakteri sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Selain itu, saponin juga memiliki molekul yang dapat menarik air dan juga memiliki molekul yang dapat melarutkan lemak sehingga menurunkan tegangan permukaan sel yang pada akhirnya akan menyebabkan bakteri tersebut mati [10]. Kandungan rimpang bangle dapat terlihat pada Tabel 1.

TABEL 1

UJI FITOKIMIA EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Z. cassumunar* Roxb.)

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian /Pemeriksaan	Hasil Pengujian /Pemeriksaan	Metode Pengujian
1	Ekstrak Rimpang Bangle	Uji Fitokimia :		Kualitatif
		* Alkaloid	+	
		* Saponin	+	
		* Tanin	+	
		* Fenolik	+	
		* Flavonoid	+	
		* riterpenoid	+	
		* Steroid	-	
		* Glikosida	+	

Sumber : (BALITRO, 2016)¹¹

Keterangan:

(+) = Mengandung senyawa yang dimaksud

(-) = Tidak mengandung senyawa yang dimaksud

Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh manusia.¹¹ Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia digolongkan sebagai bakteri patogen dan sebaliknya yang tidak menyebabkan penyakit disebut bakteri non-patogen. Berdasarkan toksisitasnya, suatu antimikroba dapat

digolongkan menjadi Bakteriostatik, yaitu zat yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri. Dan Bakterisid, yaitu zat yang bersifat membunuh bakteri [6].

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok [6]:

a. Antimikroba yang mengganggu metabolisme sel bakteri.

Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteriostatik. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat dan sulfon. Kerja antibakteri ini adalah menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis sendiri dari asam para amino benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, sedangkan trimetoprim bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase.

b. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel bakteri.

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, sintesis petidoglikan akan dihalangi oleh adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, sikloserin. Sikloserin akan menghambat reaksi paling dini dalam proses sintesis dinding sel, sedangkan yang lainnya menghambat di akhir sintesis petidoglikan, hal ini mengakibatkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan tidak mempertahankan pertumbuhan sel secara normal, sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri akan menyebabkan lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka.

c. Antimikroba yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri.

Sitoplasma dibatasi oleh mebran sitoplasma yang merupakan penghalang dengan permeabilitas yang selektif. Membran sitoplasma akan mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Jika terjadi kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

d. Antimikroba yang menghambat sintesis protein mikroba.

Kehidupan sel bakteri tergantung pada terpilihnya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Jika kondisi atau substansi yang dapat mengakibatkan terdenaturasinya protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) yang bersifat *irreversible* terhadap komponen-komponen seluler yang vital ini.

e. Antimikroba yang merusak asam nukleat sel mikroba.

Protein, DNA, dan RNA berperan penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri. Apabila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel total pada sel.

Penentuan kerentanan patogen antibakteri terhadap obat antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama yaitu difusi dan dilusi.⁴

1. Metode Difusi

Metode difusi cakram atau *Kirby-Bauer test* merupakan metode yang sering digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara piringan yang berisi agen antimikroba

diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme kemudian diinkubasi. Area jernih atau disebut juga zona hambat mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba permukaan media agar [4]. Davis and Stout (2009) [12] membagi kekuatan daya antibakteri menjadi 4 kriteria, yaitu lemah, sedang, kuat dan sangat kuat, dapat dilihat pada Tabel 2.

TABEL II
KRITERIA KEKUATAN DAYA ANTIBAKTERI

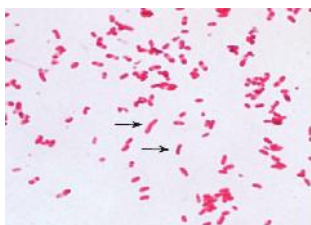
No.	Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Antibakteri
1	5	Lemah
2	5 – 10	Sedang
3	10 – 20	Kuat
4	> 20	Sangat Kuat

Sumber : Davis and Stout, 2009¹²

2. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Tujuan akhirnya untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang di uji.⁴

Vibrio cholerae adalah bakteri yang termasuk dalam famili *Vibrionaceae*, berbentuk koma dengan panjang 2-4 µm, bersifat anaerob dan motil, serta mempunyai satu flagel kutub. *V. cholerae* serogrup O1 dan O139 menyebabkan kolera pada manusia, sementara *Vibrio* lainnya dapat menyebabkan sepsis atau enteritis. Pada biakan yang lama, *Vibrio* dapat terlihat dalam bentuk batang lurus yang menyerupai bakteri enterik gram negatif.¹³



Sumber : Jawetz et al, 2013
Gbr 1. Mikroskopik *V. cholera* [4]

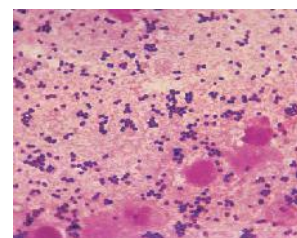
V. cholerae membentuk koloni konveks, halus, dan bundar yang tampak opak dan granular bila disinari cahaya. *V. cholerae* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C pada berbagai macam medium, termasuk medium khusus yang mengandung garam mineral dan asparagin sebagai sumber karbon dan nitrogen. *V. cholerae* tumbuh dengan baik pada agar tiosulfat-sitrat-empedu-sukrosa (TCBS), tempat bakteri tersebut menghasilkan koloni kuning yang dapat dilihat langsung dengan latar belakang agar yang berwarna hijau gelap. *V. cholerae* bersifat oksidase-positif, yang membedakannya dari bakteri enterik gram negatif. Secara khas, *Vibrio* tumbuh pada pH yang sangat tinggi (8,5-9,5) dan dapat dibunuh dengan cepat oleh asam. Oleh sebab itu, biakan yang mengandung karbohidrat yang dapat difermentasikan dapat menjadi steril dengan cepat [13].

Vibrio cholerae umumnya memfermentasikan sukrosa dan manosa tetapi tidak arabinosa. Uji oksidase-positif adalah kunci dalam identifikasi awal *V. cholerae* dan *Vibrio* lainnya. Spesies *Vibrio* rentan terhadap senyawa O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridin fosfat), yang membedakan dari spesies *Aeromonas*, yang resistan terhadap O/129. Sebagian besar spesies *Vibrio* bersifat *haloterant* (tahan terhadap garam), dan NaCl sering merangsang pertumbuhannya. Beberapa *Vibrio* bersifat *halofilik*, memerlukan NaCl untuk dapat tumbuh [13].

V. cholerae dan *Vibrio* sejenis lainnya menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas dengan berat molekul sekitar 84.000, yang terdiri dari subunit B, yang mendorong masuknya subunit A ke dalam sel. Aktivitas subunit A1 menyebabkan peningkatan kadar cAMP intraselular dan mengakibatkan hipersekresi air dan elektrolit yang terus menerus. Terdapat peningkatan sekresi klorida yang tergantung natrium, dan absorpsi natrium dan klorida terhambat. Diare terjadi sebanyak 20-30 L/hari mengakibatkan dehidrasi, syok, asidosis, dan kematian. Gen untuk enterotoksin *V. cholerae* terdapat pada kromosom bakteri. Enterotoksin kolera secara antigenik berhubungan dengan LT *Escherichia coli* dan dapat merangsang produksi antibodi netralisasi. Walaupun demikian, peran antitoksik dan antibodi antibakteri yang sebenarnya dalam perlindungan terhadap kolera masih belum jelas [13].

Staphylococcus adalah sel sferis Gram positif, tersusun dalam kelompok seperti anggur yang tidak teratur. Beberapa tipe *Staphylococcus* merupakan flora normal kulit dan membran mukosa manusia sedangkan tipe lainnya dapat menimbulkan supurasi, membentuk abses, berbagai infeksi piogenik dan bahkan septikemia yang fatal. Genus *Staphylococcus* memiliki sedikitnya sekitar 30 spesies, namun hanya tiga spesies utama yang memiliki kentingan klinis, salah satu diantaranya yaitu *S. aureus*. Bakteri ini bersifat koagulase-positif, yang membedakannya dari spesies lain. *S. aureus* merupakan pathogen yang utama pada manusia, hampir setiap orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya dengan derajat keparahan yang beragam [13].

Secara taksonomi bakteri ini di klasifikasikan dalam family *Staphylococcus*. Bakteri ini berbentuk sel sferis, berdiameter sekitar 1µm tersusun dalam kelompok yang tidak teratur. Kokus tunggal, berpasangan, *tetrad* dan bentuk rantai juga terlihat dibiakan cairan. *Staphylococcus* tidak motil dan tidak membentuk spora [13].



Sumber: Kayser et al, 2005¹⁴
Gbr 2 Mikroskopik *S. aureus*

Identifikasi *S. aureus* yaitu bentuk bulat, susunan bergerombol seperti anggur, warna ungu, sifat Gram positif, metode pewarnaan Gram. Organisme ini paling cepat berkembang pada suhu 37°C tetapi suhu terbaik untuk menghasilkan pigmen adalah suhu ruangan, yaitu sekitar 20-25°C. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus,

meninggi dan berkilau, *S. aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan.¹³

Staphylococcus mengandung polisakarida antigenik dan protein serta substansi penting lainnya di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan, polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Asam teikoat, yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat berhubungan dengan peptidoglikan dan dapat menjadi antigenik. Beberapa strain *S. aureus* memiliki kapsul yang dapat menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibodi spesifik.

Kemampuan patogenik *S. aureus* merupakan gabungan efek faktor ekstraselular dan toksin serta sifat invasif strain tersebut. *S. aureus* yang patogen dan invasif menghasilkan koagulasi dan cenderung menghasilkan pigmen kuning dan bersifat hemolitik [13].

Aktivitas antibakteri diukur *in vitro* untuk menentukan (1) potensi zat antibakteri dalam larutan, (2) konsentrasi dalam cairan tubuh dan jaringan, dan (3) kepekaan mikroorganisme terhadap obat pada konsentrasi tertentu. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri *in vitro*, yang berikut harus diperhatikan karena secara nyata mempengaruhi hasil-hasil tes yaitu, (1) pH lingkungan, (2) komponen medium, (3) stabilitas obat, (4) ukuran okulum, (5) lama inkubasi, dan (5) aktivitas metabolik mikroorganisme.¹³

III. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan *experimental*. Peneliti membagi dua kelompok yang terdiri atas kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Dalam desain ini intervensi dilakukan terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus* dengan ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) dalam konsentrasi tertentu. Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan metode difusi cakram secara *in vitro*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta pada bulan Januari - Agustus 2016.

Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak etanol rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) yang berasal dari perkebunan BALITTRO (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik).

Jumlah ulangan dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus Federer. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok 25%, 50%, 75% dan 100%, dan dua kelompok kontrol, yaitu satu kontrol positif (*tetrasiklin*) dan satu kontrol negatif (*aquades*). Hal ini berdasarkan penelitian Tirtaningrum (2013)⁵ pada konsentrasi 22,5% dan 25% terdapat efektivitas antibakteri pada bakteri Gram negatif. Penelitian Wahyudi (2011, hlm. 35) dengan metode dilusi berhasil membuktikan ekstrak bangle (*Z. Cassumunar* Roxb.) memiliki konsentrasi hambat minimum pada 12,5%, 25%, dan 100%.

Besar sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer, dan hasilnya adalah 4 buah sediaan MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang telah dibiakkan bakteri *V. cholera* dan *S. aureus* untuk setiap kelompok percobaan.¹⁵

Alat yang diperlukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut : pipet ukur, spuit 5 cc, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, lampu spiritus, sarung tangan, *autoclave*, pinset, *incubator*, *beaker glass*,

jangka sorong, *absorben pads* (kertas cakram) diameter 6 mm, swab steril.

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut : ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.), suspensi *V. cholerae* yang dibiakkan di MHA selama 24 jam, suspensi *S. aureus* yang dibiakkan di MHA selama 24 jam, aquades steril 50 ml, NaCl 0,9 % steril 10 ml. BaCl₂ 1,175 %, dan H₂SO₄ 1%.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dengan skala rasio, yaitu skala numerik yang bersifat kuantitatif, dapat diukur dan mempunyai nilai nol alami.¹⁶

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* pada MHA diukur dalam millimeter dengan skala rasio, yaitu skala numerik yang bersifat kuantitatif, dapat diukur dan mempunyai nilai nol alami.¹⁶

Variabel perancu pada penelitian ini adalah : suhu inkubasi 37°C, lama waktu Inkubasi 24 jam, kepekatan bakteri 0.5 Mc Farland dan pH medium.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi. Kertas cakram berisi ekstrak rimpang bangle (*Z. Cassumunar* Roxb.) ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram untuk mengukur kekuatan hambatan terhadap organisme uji.¹⁷

Berdasarkan kriteria kekuatan daya anti bakteri¹² hasil ukur dilihat dari diameter zona hambat (mm) dapat dilihat pada Tabel 1.

Larutan kontrol yang digunakan dalam eksperimen ini adalah larutan aquades sebagai kontrol negatif dan antibiotik tetrasiklin sebagai kontrol positif. Alasan dipilihnya larutan aquades sebagai kontrol negatif adalah tidak adanya daya hambat terhadap bakteri uji. Tetrasiklin dipilih sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena antibiotik ini merupakan antibiotik selektif untuk bakteri uji dan terdapat adanya daya hambat terhadap bakteri uji.

Uji yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *One-way ANOVA* (uji parametrik) dengan syarat distribusi data harus normal dan homogen. Uji normalitas digunakan uji *Shapiro-Wilk* dengan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) (Dahlan, 2009, hlm.88). Uji homogenitas (*Levene's Test*) dilakukan secara tidak langsung melalui uji *One-way ANOVA* dengan nilai signifikansi juga lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).¹⁸

Apabila syarat uji *One-way ANOVA* tidak terpenuhi maka digunakan uji alternatifnya yaitu uji *Kruskal-Wallis* (uji non-parametrik). Jika nilai signifikansi uji *One-way ANOVA* dan uji *Kruskal-Wallis* kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dilakukan analisis *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian merupakan uji efektivitas antibakteri dengan menggunakan ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. Efektivitas antibakteri dapat dilihat dengan terbentuknya zona hambat,

yaitu berupa zona bening di daerah sekeliling kertas cakram, kemudian diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong digital. Hasil penelitian menunjukkan terdapat daya hambat ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus*, serta terdapat perbedaan efektivitas antibakteri dari konsentrasi yang berbeda pada ekstrak tersebut.

TABEL III
HASIL PENGUKURAN DIAMETER ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Z. CASSUMUNAR* ROXB.) TERHADAP PERTUMBUHAN *V. CHOLERA*

Percobaan	Kontrol negatif	Kontrol positif	25%	50%	75%	100%
1	0	17,09	2,40	4,02	6,63	8,72
2	0	17,18	3,77	5,06	6,73	8,09
3	0	17,48	1,75	4,20	5,57	7,06
4	0	17,34	1,49	3,59	5,43	7,76
Rata-rata	0	17,42	2,35	4,36	6,09	7,90

Pada Tabel 3, menunjukkan bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *V. cholerae*. Pada kelompok kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat karena kelompok kontrol negatif tidak mengandung zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *V. cholerae*. Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 25 % dan terus bertambah sesuai penambahan konsentrasi ekstrak, yang artinya semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Menurut Davis & Stout (2009)¹², rata-rata zona hambat yang terbentuk terhadap *V. cholerae* pada konsentrasi 25 % dan 50% termasuk kelompok daya hambat lemah dengan diameter zona hambat 5 mm. Pada konsentrasi 75% dan 100 % termasuk kelompok daya hambat sedang karena diameter zona hambat yang terbentuk 10 mm, dan kontrol positif termasuk kelompok daya hambat kuat karena memiliki rata-rata diameter zona hambat 10 mm, sedangkan kontrol negatif tidak memiliki zona hambat.

TABEL IV
HASIL PENGUKURAN DIAMETER ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Z. CASSUMUNAR* ROXB.) TERHADAP PERTUMBUHAN *S. AUREUS*

Percobaan	Kontrol negatif	Kontrol positif	25%	50%	75%	100%
1	0	15,27	6,55	9,11	9,80	11,03
2	0	12,99	3,77	4,25	5,07	9,76
3	0	13,46	6,83	6,55	7,70	11,31
4	0	13,59	5,24	6,29	7,52	10,32
Rata-rata	0	13,82	5,59	6,55	7,52	10,60

Pada Tabel 4. menunjukkan bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Pada kelompok kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat karena kelompok kontrol negatif tidak mengandung zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 25 % dan terus bertambah sesuai penambahan konsentrasi ekstrak, yang artinya semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Menurut Davis & Stout (2009)¹², rata-rata zona hambat yang terbentuk terhadap *S. aureus* pada konsentrasi

25 %, 50 %, dan 75 % termasuk kelompok daya hambat sedang dengan diameter zona hambat 10 mm. Pada konsentrasi 100 % termasuk kelompok daya hambat kuat karena diameter zona hambat yang terbentuk 10 mm. Kontrol positif termasuk kelompok daya hambat kuat karena zona hambat yang terbentuk 10 mm, sedangkan kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat.

B. Analisis Data Ekstrak Rimpang Bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) Terhadap *V. cholerae*

Data yang telah diperoleh dari hasil penelitian dilakukan uji normalitas yang merupakan salah satu syarat untuk melakukan uji *One-Way ANOVA*.

Tabel V
Uji Normalitas *Shapiro Wilk* Zona Hambat Ekstrak Rimpang Bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) Terhadap *V. cholerae*

Bakteri	Konsentrasi	Uji <i>Shapiro-Wilk</i> (Sig.)
<i>Vibrio cholerae</i>	25%	0,399
	50%	0,968
	75%	0,128
	100%	0,992
	Kontrol positif	0,980

Tabel 5. menunjukkan hasil statistik uji normalitas *Shapiro-Wilk* yang telah diperoleh yaitu signifikansi tiap kelompok konsentrasi lebih dari 0,05 menunjukkan bahwa distribusi kelompok data adalah normal. Kemudian selanjutnya dilakukan uji varians data dengan *Levene's test*.

TABEL VI
UJI VARIANS DATA ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Z. CASSUMUNAR* ROXB.) TERHADAP *V. CHOLERA*

Levene's Test	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,251

Tabel 6. menunjukkan hasil uji homogenitas varians yang menunjukkan varians data memiliki nilai sebesar $0,251 > 0,05$ artinya bahwa varians data sama dan memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One Way ANOVA*.

TABEL VII
UJI *ONE-WAY ANOVA* EKSTRAK EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Z. CASSUMUNAR* ROXB.) TERHADAP *V. CHOLERA*

Uji <i>One-Way ANOVA</i>	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,000

Tabel 7 menunjukkan nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna rata-rata zona hambat ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *V. cholerae* pada kelompok konsentrasi yang diuji. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan bermakna tersebut, maka dilakukan analisis *Post Hoc*.

Tabel 8. menunjukkan hasil analisis uji *Post Hoc* dari ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *V. cholerae*. Pada kontrol negatif tidak dapat diproses dalam analisis statistik, karena kontrol negatif tidak terdapat daya hambat ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *V. cholerae*.

TABEL VIII
UJI ANALISIS DATA POST HOC EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) TERHADAP V. CHOLERA

Konsentrasi (I)	Konsentrasi (J)	Sig
25%	50%	0,212
	75%	0,018
	100%	0,003
	Kontrol positif	0,001
50%	75%	0,096
	100%	0,003
	Kontrol positif	0,000
75%	100%	0,093
	Kontrol positif	0,000
100%	Kontrol positif	0,000

Kelompok konsentrasi dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ memiliki daya hambat yang berbeda, sedangkan konsentrasi dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ tidak memiliki daya hambat yang berbeda. Dengan demikian diketahui ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *V. cholerae*.

C. Analisis Data Ekstrak Rimpang Bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) Terhadap *S. aureus*

Data yang telah diperoleh dari hasil penelitian dilakukan uji normalitas yang merupakan salah satu syarat untuk melakukan uji *One-Way ANOVA*.

TABEL IX
UJI NORMALITAS SHAPIRO WILK ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) TERHADAP S. AUREUS

Bakteri	Konsentrasi	Uji Shapiro-Wilk (Sig.)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25 %	0,504
	50 %	0,785
	75 %	0,767
	100 %	0,721
	Kontrol positif	0,222

Tabel 9. menunjukkan hasil statistik uji normalitas *Shapiro-Wilk* yang telah diperoleh yaitu signifikansi tiap kelompok konsentrasi lebih dari 0,05 menunjukkan bahwa distribusi kelompok data adalah normal. Kemudian selanjutnya dilakukan uji homogenitas data dengan *Levene's test*.

TABEL X
UJI VARIANS DATA ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) TERHADAP S. AUREUS

Levene's Test	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,755

Tabel 10. menunjukkan hasil uji homogenitas varians yang menunjukkan varians data memiliki nilai sebesar $0,755 > 0,05$ artinya bahwa varians data sama. Data memenuhi syarat untuk *One-Way ANOVA* yaitu distribusi data normal dan varians data sama, selanjutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA*.

TABEL X11
UJI ONE-WAY ANOVA EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) TERHADAP S. AUREUS

Uji One-Way ANOVA	Sig
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,000

Tabel 11. menunjukkan nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna rata-rata zona hambat ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *S. aureus* pada kelompok konsentrasi yang diuji. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan bermakna tersebut, maka dilakukan analisis *Post Hoc*.

TABEL XII
UJI ANALISIS DATA POST HOC EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) TERHADAP S. AUREUS

Konsentrasi (I)	Konsentrasi (J)	Sig
25%	50%	0,998
	75%	0,831
	100%	0,022
	Kontrol positif	0,001
50%	75%	0,999
	100%	0,191
	Kontrol positif	0,020
75%	100%	0,357
	Kontrol positif	0,030
100%	Kontrol positif	0,025

Tabel 12. menunjukkan hasil analisis uji *Post Hoc* dari ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *S. aureus*. Pada kontrol negatif tidak dapat diproses dalam analisis statistik, karena kontrol negatif tidak terdapat daya hambat ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *S. aureus*. Kelompok konsentrasi dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ memiliki daya hambat yang berbeda, sedangkan konsentrasi dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ tidak memiliki daya hambat yang berbeda. Dengan demikian diketahui ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.

D. Analisis Data Perbandingan Zona Hambat Ekstrak ANOVA Ekstrak Rimpang Bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) Terhadap *V. Cholera* dengan *S. aureus* Pada Konsentrasi Yang Sama

Ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki efektivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*. Untuk mengetahui adanya perbedaan efektivitas antibakteri ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*, maka uji perbedaan dengan menggunakan uji t tidak berpasangan.

1) Konsentrasi 25 %

Uji normalitas kelompok ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) menggunakan uji Shapiro Wilk pada konsentrasi 25 %, dengan hasil :

TABEL XIII

UJI NORMALITAS SHAPIRO-WILK ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) PADA KONSENTERASI 25% TERHADAP V. CHOLERA DAN S. AUREUS

Konsentrasi 25 %	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,399
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,504

Tabel 13. menunjukkan hasil uji normalitas data konsentrasi 25 % memiliki distribusi data normal dengan nilai signifikansi >0.05. Kelompok data konsentrasi 25 % memenuhi syarat untuk dilakukan uji t tidak berpasangan.

TABEL XIV

UJI T TIDAK BERPASANGAN ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) PADA KONSENTERASI 25% TERHADAP V. CHOLERA DAN S. AUREUS

Konsentrasi 25 %	Levene's Test Sig	T-Test Sig (2-tailed)
Equal variances assumed	0,458	0,010
Equal variances not assumed		0,012

Tabel 14. menunjukan homogenitas varians data $p > 0,05$ sama maka hasil uji t tidak berpasangan memiliki nilai signifikansi 0,010. Hal ini menunjukan bahwa pada konsentrasi 25 % terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua bakteri.

2) Konsentrasi 50 %

Uji normalitas kelompok ekstrak rimpang bangle (Z. cassumunar Roxb.) menggunakan uji Shapiro Wilk pada konsentrasi 50 %, dengan hasil :

TABEL XVI

UJI NORMALITAS SHAPIRO-WILK ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) PADA KONSENTERASI 50% TERHADAP V. CHOLERA DAN S. AUREUS

Konsentrasi 50 %	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,968
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,785

Tabel 15. menunjukkan hasil uji normalitas data konsentrasi 50 % memiliki distribusi data normal dengan nilai signifikansi >0.05. Kelompok data konsentrasi 50 % memenuhi syarat untuk dilakukan uji t tidak berpasangan.

Tabel 16

Uji T Tidak Berpasangan Zona Hambat Ekstrak Rimpang Bangle (Z. cassumunar Roxb.) Pada Konsentrasi 50% Terhadap V. cholerae dan S. aureus

Konsentrasi 50 %	Levene's Test Sig	T-Test Sig (2-tailed)
Equal variances assumed	0,283	0,082
Equal variances not assumed		0,113

Tabel 16. menunjukan homogenitas varians data $p > 0,05$ sama maka hasil uji t tidak berpasangan memiliki nilai signifikansi 0,082, hal ini menunjukan bahwa pada konsentrasi 50 % tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua bakteri.

3) Konsentrasi 75 %

Uji normalitas kelompok ekstrak rimpang bangle (Z. cassumunar Roxb.) menggunakan uji Shapiro Wilk pada konsentrasi 75 %, dengan hasil :

Tabel XVII

Uji Normalitas Shapiro-Wilk Zona Hambat Ekstrak Rimpang Bangle (Z. cassumunar Roxb.) Pada Konsentrasi 75% Terhadap V. cholerae dan S. aureus

Konsentrasi 75 %	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,128
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,767

Tabel 17. menunjukkan hasil uji normalitas data konsentrasi 75 % memiliki distribusi data normal dengan nilai signifikansi >0.05. Kelompok data konsentrasi 75 % memenuhi syarat untuk dilakukan uji t tidak berpasangan.

TABEL XVIII

UJI T TIDAK BERPASANGAN ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) PADA KONSENTERASI 75% TERHADAP V. CHOLERA DAN S. AUREUS

Konsentrasi 75 %	Levene's Test Sig	T-Test Sig (2-tailed)
Equal variances assumed	0,371	0,212
Equal variances not assumed		0,240

Tabel 18. menunjukan homogenitas varians data $p > 0,05$ sama maka hasil uji t tidak berpasangan memiliki nilai signifikansi 0,212, hal ini menunjukan bahwa pada konsentrasi 75 % tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua bakteri.

4) Konsentrasi 100 %

Uji normalitas kelompok ekstrak rimpang bangle (Z. cassumunar Roxb.) menggunakan uji Shapiro Wilk pada konsentrasi 100 %, dengan hasil :

TABEL XIX

UJI NORMALITAS SHAPIRO-WILK ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) PADA KONSENTERASI 100% TERHADAP V. CHOLERA DAN S. AUREUS

Konsentrasi 100 %	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,992
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,721

Tabel 19. menunjukkan hasil uji normalitas data konsentrasi 100 % memiliki distribusi data normal dengan nilai signifikansi >0.05. Kelompok data konsentrasi 100 % memenuhi syarat untuk dilakukan uji t tidak berpasangan.

TABEL XX

UJI T TIDAK BERPASANGAN ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (Z. CASSUMUNAR ROXB.) PADA KONSENTERASI 100% TERHADAP V. CHOLERA DAN S. AUREUS

Konsentrasi 100 %	Levene's Test Sig	T-Test Sig (2-tailed)
Equal variances assumed	0,780	0,002
Equal variances not assumed		0,002

Tabel 20. menunjukkan homogenitas varians data $p > 0,05$ sama maka hasil uji t tidak berpasangan memiliki nilai signifikansi 0,002, hal ini menunjukkan bahwa pada konsentersasi 100 % terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua bakteri.

5) Kontrol Positif

Uji normalitas kelompok ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) menggunakan uji *Shapiro Wilk* pada kontrol positif, dengan hasil :

TABEL 21

UJI NORMALITAS SHAPIRO-WILK ZONA HAMBAT EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Z. CASSUMUNAR* ROXB.) PADA KONTROL POSITIF TERHADAP *V. CHOLERA* DAN *S. aureus*

Kontrol positif	Sig
<i>Vibrio cholerae</i>	0,980
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,221

Tabel 21. menunjukkan hasil uji normalitas data kontrol positif memiliki distribusi data normal dengan nilai signifikansi >0.05 . Kelompok data konsentersasi 100 % memenuhi syarat untuk dilakukan uji t tidak berpasangan.

Tabel 22

Uji T Tidak Berpasangan Zona Hambat Ekstrak Rimpang Bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) Pada Kontrol Positif Terhadap *V. cholera* dan *S. aureus*

Konsentersasi 100 %	Levene's Test Sig	T-Test Sig (2-tailed)
Equal variances assumed	0,091	0,000
Equal variances not assumed		0,004

Tabel 22. menunjukkan homogenitas varians data $p > 0,05$ sama maka hasil uji t tidak berpasangan memiliki nilai signifikansi 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa pada kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua bakteri.

Ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) menurut kriteria kekuatan daya antibakteri David & Stout (2009)¹² memiliki daya antibakteri lemah pada konsentersasi 25% dan 50% pada bakteri *V. cholerae* dengan rata-rata zona hambat 5 mm, sedangkan pada konsentersasi 75% dan 100% ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki daya antibakteri sedang dengan rata-rata zona hambat 5-10 mm. Pada bakteri *S. aureus*, ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki daya antibakteri sedang pada konsentersasi 25%, 50% dan 75% dengan rata-rata zona hambat 5-10 mm, sedangkan pada konsentersasi 100% ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki daya antibakteri kuat dengan rata-rata zona hambat >10 mm. Ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) konsentersasi 100% memiliki zona hambat yang cukup kuat, penelitian ini sejalan dengan penelitian Marliani (2012)¹⁹ yang menyatakan bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) mempunyai daya hambat bakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak rimpang bangle (*Z. Cassumunar* Roxb.) lebih efektif terhadap bakteri *S. aureus* yang merupakan Gram positif. Hal ini terjadi kemungkinan diakibatkan adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel dari kedua bakteri uji. Bakteri *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang memiliki lapisan tunggal (monolayer) dengan kandungan lipid 1-4%,

sedangkan bakteri Gram negatif dinding selnya memiliki tiga lapisan dengan kandungan lipid 11-22%. Membran luar lipid ini (fosfolipid) menyebabkan komponen kimia antibakteri pada ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) sulit menembus dinding sel bakteri Gram negatif.

Analisis data untuk menganalisis efektivitas ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang artinya didapatkan perbedaan efektivitas ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*. Pada analisis data untuk menganalisis efektivitas masing-masing konsentersasi bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* menunjukkan signifikansi $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan pada masing-masing konsentersasi di kedua bakteri uji. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Wahyudi (2011)⁶ yang membuktikan terdapat efektivitas antibakteri ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif.

Pada penelitian sebelumnya, Astuti (2013)²⁰ melakukan penelitian ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125 ppm dan hasilnya menunjukkan ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) baru memberikan efek antibakteri terhadap *S. Aureus* pada konsentrasi 500 ppm dengan hasil pengukuran secara berturut-turut memiliki zona hambat 8; 7,3; 7; 6,67 mm. Hal ini sejalan dengan penelitian yang peneliti lakukan, bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka akan semakin besar juga daya hambat bakteri yang dihasilkan, karena semakin besar konsentrasi maka akan semakin tinggi juga kadar senyawa kimia yang terkandung didalam konsentrasi tersebut. Penelitian ini menggunakan kisaran konsentersasi yang lebih besar dibandingkan dengan penelitian sebelumnya dengan kelipatan dua kali, yakni 25%, 50%, 75%, dan 100% dan mendapatkan hasil zona hambat yang lebih besar.

Pelarut etanol 70% digunakan karena sifat ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) yang larut dalam alkohol dan bersifat tidak toksik. Etanol dipilih sebagai pelarut karena etanol dapat memper-tahankan sifat dan karakteristik bahan terlarut dan mampu mengendapkan zat-zat yang terkandung dalam bahan. etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena aman digunakan untuk bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia.²⁰ Etanol bersifat polar sama seperti senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) yang juga bersifat polar. Pada prinsipnya, suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya, sehingga akan mempengaruhi sifat fisikokimia ekstraksi yang dihasilkan. Hal inilah yang menyebabkan etanol dapat melarutkan senyawa polar yang terkandung di dalam ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.). Keuntungan lain pelarut etanol adalah titik didiknya yang rendah, sehingga memudahkan pemisahan dengan komponen aktif ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.). Semakin tinggi konsentrasi etanol yang dalam pelarut, maka semakin tinggi pula kerja dalam menarik senyawa aktif dalam ekstrak, sehingga pada penelitian ini digunakan etanol dengan konsentrasi 70%.

Penggunaan Mueller Hinton Agar (MHA) pada penelitian ini sebagai media universal untuk dilakukan pembiakan bakteri karena mengandung nutrisi yang cukup untuk kultur bakteri.¹⁰ Penggunaan antibiotik tetrasiklin sebagai kontrol

positif dika-renakan antibiotik tersebut masih sensitif terhadap kedua bakteri uji. Tetrasiklin adalah antibiotik penghambat sintesis protein mikroba dan menghambat proses pembentukan dinding sel yaitu pada proses pembentukan peptidoglikan, tetrasiklin juga diyakini mengganggu permeabilitas membran organisme. Antibiotik ini merupakan antibiotik bakteriostatik spektrum luas yang aktif terhadap Gram positif dan Gram negatif.^{21,22} Medium pertumbuhan kedua bakteri yang terekspos oleh ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) menunjukkan adanya efek bakteriostatik terhadap kedua bakteri. Efektivitas bakteriostatik ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan *V. cholerae* dan *S. aureus* disebabkan karena adanya senyawa kimia yang memiliki efektivitas antibakteri yang terkandung di dalam rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.). Senyawa kimia tersebut antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Efek bakteriostatik dari senyawa kimia ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) berbeda pada tiap konsentrasinya. Semakin tinggi konsentrasinya efek bakteriostatiknya semakin besar.²³

Mekanisme kerja flavonoid terhadap bakteri yaitu dengan cara menghambat sitokrom c-reduktase, sehingga metabolisme sel bakteri terganggu atau terhenti. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri. Flavonoid juga bekerja dengan cara merusak membran sitoplasma, sehingga sel bakteri akan rusak dan mati.¹⁰ Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.²⁴ Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Tanin bekerja dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, sehingga sel bakteri tidak terbentuk. Aktivitas tanin sebagai antibakteri dengan kemampuannya dalam menginaktivasi adesi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel yang akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, sehingga membran akan bocor (mengganggu permeabilitas) yang mengakibatkan keluarnya cairan metabolit dan metabolisme bakteri terganggu yang menyebabkan bakteri mengalami penghambatan pertumbuhan bahkan dapat mengalami kematian.¹⁰

V. KESIMPULAN

Pada penelitian yang saya lakukan didapatkan hasil sebagai berikut :

- Ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio cholerae* yang bersifat Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* yang bersifat Gram positif.
- Efek antibakteri maksimal didapatkan pada konsentrasinya 100 % untuk bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*.
- Terdapat perbedaan efek antibakteri ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) antara bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*.

- Ekstrak rimpang bangle (*Z. Cassumunar* Roxb.) memiliki daya hambat lebih besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan Gram positif, dibandingkan dengan daya hambat terhadap *Vibrio cholerae* yang merupakan Gram negatif.

Berdasarkan hasil penelitian yang saya lakukan kesimpulannya adalah terdapat perbedaan efektivitas senyawa antibakteri ekstrak rimpang bangle (*Z. cassumunar* Roxb.) terhadap *V. cholerae* dan *S. aureus* dengan metode difusi cakram.

DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization (WHO) 2013, *Diarrhoeal disease*. Diakses tanggal 5 September 2015. [Online] Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/>
- Depkes RI. 2011. Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta : Depkes RI
- Rina A, Simadibrata M, Syam A. *Buku Ajar Gastroenterologi*. Edisi 1. Jakarta: Interna Publishing, 2011, hal 67-73
- Jawetz et al. 2013, *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta : EGC, hal: 170, 274,225,
- Tirtaningrum, A.Y. 2014. "Pengaruh Dosis Infusa Bangle (Zingiber Cassumunar Roxb) Pada Proses Perendaman Ikan Bandeng (Chanos Chanos) Terhadap Jumlah Bakteri *Escherichia coli*". *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
- Wahyudi, A. 2011." Ekstraksi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)". *Tesis*. Program Pasca Sarjana, Universitas Indonesia
- Padmasari, P.D., dkk. 2013. "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.)". *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.
- Sabir, A. 2005. "Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp. Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In Vitro)". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin
- Benbott A, Yahya A and Belaidi A. 2012. Assesement of The Antibacterial Activity of Crude Alkaloids Extracted From Seeds and Roots of Plant *Peganum harmala*, L, *J. Nat. Prod. Plant Resour Elsevier*, Edisi 2(5) pp:568-573
- Poeloengan, M., dan Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). Media Litbang Kesehatan, Volume XX Nomor 2 Tahun 2010, hal 65-69.
- Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. 2016. *Uji Fitokimia Rimpang Bangle*, BALITTRO, Jakarta.
- Davis, WW. and Stout, TR. 2009. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied and Enviromental Microbiology*, 22 (4), hlm.666-670.
- Jawetz et al. 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta : EGC, hal: 170, 225-228, 274-275
- Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J. and Zinkernagel R.M. 2005., *Medical Microbiology*. Stuttgart: Thieme.
- Nazir, M. 2004, *Metode Penelitian*. Jakarta : Ghalia Indonesia, hlm.45.
- Sastroasmoro, S., Ismael, S. 2011, *Dasar – Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: CV Sagung Seto. *Sciencia*, 1 (1), 98-106.
- Hudzicki, J. 2010. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Diakses pada pukul 19.06 tanggal 07 maret 2016. [Online] Available from <http://www.microbelibrary.org/index.php/library/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol/>
- ahlan, S. 2012, *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Jakarta : Salemba Medika.
- Marliani, L. 2012. "Aktivitas Antibakteri Dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb)". *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Bandung
- Astuti, T.B. 2013. "Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan Jamur *Microsporum canis* secara *in vitro*". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Negeri Islam
- Nonong, Y.H, Satari, M.H. 2011. "Tetrasiklin Sebagai Salah Satu Antibiotik Yang Dapat Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Resistensi-Metisilin (MRSA)". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran.
- Salamena, R.Z. 2015. "Deteksi dan Resistensi *Staphylococcus aureus* Patogen Pada Daging Ayam". *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas

- Hasanuddin.
23. Sine, Y. 2012. “ Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Daun Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Universitas Nusa Cendana Kupang.
24. Taufiq, S., Yuniarni, U., Hazar, S. 2015. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap *Escherechia coli* dan *Salmonella typhi*. Skripsi. Universitas Islam Bandung.